УДК 57.06

УНИКАЛЬНЫЕ ГАПЛОТИПЫ Artemia salina (Crustacea, Branchiopoda, Anostraca) В ГИПЕРСОЛЕНОМ 03. САСЫК-СИВАШ (КРЫМ)

© 2023 г. А. О. Лантушенко^{*a*}, Я. В. Мегер^{*a*}, *, А. В. Гаджи^{*a*}, Е. В. Ануфриева^{*a*}, *b*, Н. В. Шадрин^{*a*}, *b*

^аСевастопольский государственный университет, Севастополь, Россия ^bФедеральный исследовательский центр Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского Российской академии наук, Севастополь, Россия

*e-mail: meger_yakov@mail.ru Поступила в редакцию 03.11.2022 г. После доработки 22.03.2023 г. Принята к публикации 14.04.2023 г.

Исследована генетическая структура популяции вида *Artemia salina* (L., 1758), из гиперсоленого оз. Сасык-Сиваш на основе фрагмента гена первой субъединицы цитохром оксидазы *с* СОІ митохондриальной ДНК. Реконструкция филогении выполнена с использованием всех имеющихся в международной базе данных GenBank (NCBI) нуклеотидных последовательностей данного гена для вида *salina*. Установлены генеалогические связи между СОІ гаплотипами и выявлены филогеографические паттерны. В западно-средиземноморских популяциях отмечены общие гаплотипы, что может быть следствием их расположения в едином миграционном коридоре птиц, которые, как известно, способствуют пассивному распространению покоящихся стадий артемии. Географически изолированные группы популяций из Ливии, Туниса, Египта, Кипра и Крыма характеризуются уникальными гаплотипами, в настоящее время не обнаруженными в других средиземноморских популяциях. Высказано предположение, что уникальные гаплотипы могут быть эндемичными для географически удаленных регионов.

Ключевые слова: филогенетический анализ, митохондриальная ДНК, *Artemia salina*, гаплотипы **DOI:** 10.31857/S032096522305008X, **EDN:** REAHCK

введение

Фауна отдельных водных экосистем, например озер, состоит как из активно распространяющихся животных (амфибионтные летающие насекомые, амфибии), так и пассивно распространяемых беспозвоночных, переносимых ветром или подвижными животными (Fontaneto, 2019; Hessen et al., 2019). При этом птицами и летающими насекомыми переносятся чаще всего покоящиеся стадии этих животных (Green et al., 2005; Frisch et al., 2007; Naceur, 2020). Изучение структуры популяций и филогеографические образцы пассивно расселяемых водных беспозвоночных показало, что, несмотря на их высокую способность к колонизации новых местообитаний в покоящихся стадиях, эти организмы часто демонстрируют неожиданно высокую степень генетической дифференциации и локального эндемизма вследствие низкого потока генов между такими популяциями (Hebert, 1998; De Meester, 2002; Hebert et al.,

2003b; Penton et al., 2004; De Gelas, De Meester, 2005; Paland et al., 2005; Ishida, Taylor, 2007). В настоящее время для таких популяций в основном рассматривается два крайних варианта филогеографической структуры. Во-первых, относительно старые популяции в плейстоценовых убежищах или вокруг них демонстрируют глубокую дивергенцию/диверсификацию генетической структуры и сильные межпопуляционные различия с высокой степенью локального эндемизма (Gómez et al., 2000, 2007; Zierold et al., 2007). Во втором случае обнаруживается незначительно дифференцированная географическая структура и пониженное генетическое разнообразие, что свидетельствует о недавнем и быстром расширении ареала в новую доступную область, либо после естественной колонизации, часто послеледниковой, или после интродукции человеком (Weider et al., 1999; Mergeay et al., 2005; Ishida, Taylor, 2007). Сочетание обоих вариантов может быть обнаружено у одного и того же вида в зависимости от возраста его локальных популяций по всему apeany (Ishida, Taylor, 2007). Для понимания закономерностей

Сокращения: СОІ – первая субъединица цитохромоксидазы *c*, Н – гаплотип.

формирования филогеографических образцов вида необходимы данные о молекулярно-генетической структуре его локальных популяций на различных пространственных масштабах (Gómez et al., 2002; Adamowicz et a., 2005, 2007).

Удобными модельными объектами для филогеграфических исследований являются виды рода Artemia (Crustacea, Branchiopoda, Anostraca), широко распространенные в мире, играющие важную роль в функционировании экосистем гиперсоленых водоемов и имеющие большую коммерческую ценность (Sanchez et al., 2016; Marden et al., 2020; Van Stappen et al., 2020). В водоемах Крыма при соленостях >100 г/л артемии часто доминируют и достигают весьма высокой численности в гиперсоленых озерах и лагуне Сиваш – >75 тыс. экз./м³ (Балушкина и др., 2009; Anufriieva et al., 2022). Они играют ключевую роль в пищевых сетях этих водоемов, питаясь фитопланктоном, и служат пищей для различных беспозвоночных и водных птиц (Sanchez et al., 2016; Marden et al., 2020). Как организмы-фильтраторы виды рода Artemia участвуют в образовании лечебных грязей (Балушкина и др., 2009) и очищении воды от ртути (Shadrin et al., 2022).

В настоящее время в мире наряду с партеногенетическими популяциями признано существование пяти валидных видов двуполых артемий: A. salina (L., 1758), A. urmiana Günther, 1890, A. monica Verrill, 1869 (=A. franciscana Kellogg, 1906) и A. sinica Cai, 1989, A. persimilis Piccinelliand Prosdocimi, 1968 (Sainz-Escudero et al., 2021). B Крыму, крупнейшем п-ве Черного моря, в многочисленных гиперсоленых водоемах отмечено существование четырех двуполых видов (A. salina, A. urmiana, A. monica и A. sinica) и множество разноплоидных партеногенетических популяций Artemia (Shadrin, Anufriieva, 2017; Lantushenko et al., 2022). Artemia salina – аборигенный вид Средиземноморско-Черноморского региона, характеризующийся высоким локальным генетическим разнообразием (Munoz et al., 2008). Вселение А. monica (=A. franciscana) в гиперсоленые водоемы этого региона ведет к исчезновению локальных популяций A. salina и, следовательно, к снижению генетического разнообразия вида (Munoz et al., 2008). Разнообразие гаплотипов в крымских популяциях A. salina ранее не изучали.

Цель работы — дать анализ гаплотипического разнообразия и оценить уровень его уникальности в популяции *A. salina* из оз. Сасык-Сиваш, крупнейшего гиперсоленого озера Крыма.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В Крыму зарегистрировано >50 гиперсоленых озер, оз. Сасык-Сиваш (45°09'10" с.ш., 33°31'04" в.д.) – крупнейшее среди них (Shadrin et al., 2022). Площадь озера 75.3 км². Озеро мелководное (глубина ≤1.5 м), полимиксное, характеризуется высокой сезонной и многолетней изменчивостью различных характеристик. В настоящее время озеро разделено на две части – с низкой и высокой соленостью. В период наблюдений (2016–2022 гг.) соленость в гиперсоленой части озера колебалась от 220 до 350 г/л (Shadrin et al., 2022), средняя соленость была ~280 г/л.

В июле 2021 г. в оз. Сасык-Сиваш собраны взрослые особи *A. salina*, плотность популяции рачков достигала 220 экз./м³ при солености 245 г/л и температуре ~35°С. Пробы отбирали путем фильтрации воды через малую планктонную сеть Джеди с размером ячеи газа 50 мкм. Живых рачков доставляли в лабораторию для дальнейшего анализа. Одновременно с взятием проб в озере измеряли соленость и температуру воды с помощью портативного рефрактометра WZ212 (Kelilong Electron Co. Ltd., Фуань, Китай) и электронного рН-метра РНН-830 (OMEGA Engineering Inc., Норуолк, США) соответственно.

Тотальную ДНК выделяли с помощью набора ДНК-Экстран 2 (Синтол, Россия) согласно инструкциям производителя. Качество выделенных продуктов оценивали на нанофотометре Implen N60 (Germany) и с помощью электрофореза на 1.5%-ном агарозном геле. Фрагмент маркерного митохондриального гена СОІ амплифицировали с помощью ПЦР набора Screen-Mix (Eurogen, Россия) в объеме 25 мкл с использованием двух праймеров 2COI Fol-F (5'-ATTCTAC-GAATCACAAGGATATTGG-3') и 2COI Fol-R (5'-TACACTTCAGGATGGCCAAAA) (Munoz, 2008). Протокол амплификации включал следующие стадии: предварительная денатурация 5 мин — 95°С, 34 цикла амплификации 30 с – 95°С, 30 с – 48°С, 45 с – 72°С и финальная элонгация 5 мин – 72°С. Очистку от остаточных продуктов ПЦР-смеси осуществляли методом сорбционной экстракции ДНК набором Colgen (Синтол, Россия). Для проверки однородности размерного состава амплифицированных фрагментов проводили визуализацию с помощью электрофореза на 1.5%-ном агарозном геле, концентрацию полученного продукта контролировали спектрофотометрически на нанофотометре Implen N60. При секвенировании использовали набор реагентов Big Dye Terminator v.3.1 cycle sequencing kit (Thermo Fisher Scientific, США), визуализацию продуктов секвенирования осуществляли при помоши капиллярного электрофореза на генетическом анализаторе Нанофор 05 (Синтол, Россия) в Центре коллективного пользования "Молекулярная структура вещества" Севастопольского гос. университета. Всего получено и проанализировано восемь нуклеотидных последовательностей фрагмента гена СОІ мтДНК длиной 559 пн.



Рис. 1. Карта ареала обитания *A. salina* и филогенетическое дерево вида. Дерево построено с помощью байесовских методов в MrBaeys v.3.2: цветом выделена клада, сформированная уникальными гаплотипами из различных популяций; на цветовой шкале отображена поддержка узлов. ● – анализируемые популяции (всего 38).

Редактирование полученных нуклеотидных последовательностей проводили вручную в программе Bioedit v.7.2.5 (Hall et al., 2011). В дополнение к полученным оригинальным данным в анализ включали все последовательности гена COI A. salina, доступные в международной базе данных GenBank (NCBI), общее число последовательностей длиной 559 пн – 115 (табл. 1). Выравнивание проводили в программе Mega-X (Kumar, 2018) с помощью алгоритма MUSCLE, гаплотипический анализ - в DnaSP6 (Rozas, 2017). Гаплотипическую сеть реконструировали методом TCS (Templeton, Crandall and Sing, 1992) в программе PopART v.1.7 (Leigh, Bryant, 2015). Kapty reorpaфического распространения гаплотипов составляли на основе координат, соответствующих исследованным популяциям. Филогенетический анализ для A. salina проводили с помощью байесовских методов в MrBaeys v.3.2 (Ronquist, 2012). Он включал 10 млн итераций, 25% первых исключали из дальнейшего анализа. Топологию результирующего дерева выбирали по лучшей достоверности клад, длину ветвей вычисляли по средним значениям параметров промежуточных деревьев.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В исследованной популяции *A salina* обнаружено четыре гаплотипа H1-H4 (табл. 1, рис. 1). Один из выделенных гаплотипов был найден у пяти особей, три остальных – единожды. Важно отметить, что все четыре гаплотипа отмечены только в популяции из оз. Сасык-Сиваш, следовательно, их можно считать уникальными, и, возможно, эндемичными для п-ова Крым.

Всего для вида *A. salina* выявлено 76 гаплотипов (табл. 1), 16 из них — общие для разных популяций, 60 — уникальные, встречающиеся только в одной популяции. Популяционно-генетические параметры свидетельствуют о достаточно высоком разнообразии гаплотипов у *A. salina* (табл. 2). Для обитающих в Европе особей инвазивного вида

0 0004

ЛАНТУШЕНКО и др.

_	~				
Гаплотип—	Сокращенное	Географическое	Номера в ГенБанке	Литературный источник	
число особей	название популяции	расположение	(NCBI)		
H1-5	SS	оз. Сасык-Сиваш,	OQ376365	Данные авторов	
		Крым	ON872209		
			OP753708		
			ON872211		
			ON872210		
H2-1	SS	То же	ON872208	То же	
H3-1	SS	*	ON872206	*	
H4—1	SS	*	ON872207	*	
H5-6	BON, BRAS, MAT, PIN	Испания	DQ426827, DQ426836, DQ426851	Munoz et al., 2008	
H6-1	MAT	То же	DQ426828	То же	
H7-1	MAT	»	DQ426829	»	
H8-1	BON, BRAS, MAT	*	DO426830	»	
H9–6	DON. EBR. ROC.	Испания. Италия	DO426831. DO426832.	»	
	POR, MOL, SGI		DQ426853, DQ426857, EU543475, EU543477		
H10 1	DON POR ROC	Испония	DO426833		
$H_{11} = 1$	DON, FOR, ROC	То же	DQ420833 DQ426834 $DQ426856$	*	
$H_{12} = 1$	DON, FOR	ТОЖС	DQ420834, DQ420830	"	
$H_{12} = 1$		"	DQ420835	"	
H13-1		*	DQ420837	*	
$\Pi 14 - 1$ $\Pi 15 = 1$		*	DQ420838	*	
H13-1		*	DQ420839	»	
$H_{10} - 1$	DIN	*	DQ420840	*	
H_{1}^{-1}		*	DQ420841	*	
П18—1	PIIN	*	DQ420842	»	
$H_{19} = 1$ $H_{20} = 1$		*	DQ420843	*	
$H_{20} - 1$		*	DQ420844	*	
$\Pi 21 - 1$	PIIN	*	DQ420843	*	
$\Pi 22 - 1$	PIN CED	*	DQ420840	*	
H25-1	CER	*	DQ420847	*	
H24-1	CER	*	DQ420848	*	
$H_{23} - 1$	CEK DON CED	*	DQ420849	»	
H20-1	BON, CEK	*	DQ420830	»	
$H_{2}^{2}/-1$	PUK	»	DQ426854	*	
$H_{28} - 1$	MUL, PUK, SGI	Испания, италия	DQ420855	»	
H29-1	EBK	испания	DQ420838	»	
H30-1	KUS	То же		»	
H31-/	SCA, MAL, LAM,	*	EU543445, EU543446,	Sainz-Escuderoet al.,	
	SAL		EU343449, 0M486989, 0M486989, 0M48699, 0M4869, 0M48699, 0M48699, 0M48699, 0M48699,	2022	
			OM486996		
H32_1	MAL	~	EU543447	Munoz et al 2008	
H33_1	MAI	"	FU543448	To we	
H34_5	CAM SAL SNT	"	EU543450 OM/86007	Sainz-Escudero et al	
1157-5	$\nabla \Delta \mathbf{W}$	"	OM486998 OM486999	2022 Eimanifar et al	
			OM487000	2014	
H35–1	CAM	»	EU543451	Munoz et al., 2008	
H36–1	JAD	Марокко	EU543452	То же	

Таблица 1. Гаплотипы (H) Artemia salina, найденные в разных частях ареала и проанализированные в данной работе

число особей название полузящии расположение (NCBI) источник H37-1 JAD То же EU543453 * H38-6 JAD, MEG Mapocko, Tynuc EU543454, KF69150, KF691511, KF691512, KF691513 Munoz et al., 2008, Einanifar et al., 2014 H39-1 JAD Mapocko EU543455, EU543458 Munoz et al., 2008 H40-2 ADH, SAH Tynuc EU543457, EU543456 To же H41-2 ADH Tynuc, Junus EU543457, EU543461 * H42-1 ADH Tynuc EU543462 * H44-1 ADH To же EU543463 * H44-1 ADH * EU543464 * H45-1 LB, SAH * EU543463 * H46-1 LB, SAH * EU543467 * H47-1 SAH * EU543467 * H48-1 GAR * EU543467 * H49-2 GAR, REL To жe EU543470 * *	Гаплотип-	Сокрашенное	Географическое	Номера в ГенБанке	Литературный	
$ \begin{array}{c c c c c c c c c c c c c c c c c c c $	число особей	название популяции	расположение	(NCBI)	источник	
H32-6 LD, MEG Hapoxko, Tynne EU543454, KF691509, KF691510, KF691511, KF691512, KF691511, KF691512, KF691513 Munoz et al., 2008 H39-1 JAD Mapoxko EU543455, EU543458 Munoz et al., 2008 H40-2 ADH, SAH Tynne, Tunne, EU543457, EU543450 % H41-1 ADH Tynne, Tunne, EU543457, EU543460 % H44-1 ADH To ze EU543452 % H44-1 ADH To ze EU543461 % H44-1 ADH To ze EU543464 % H44-1 ADH To ze EU543466 % H45-1 LIB, SAH % EU543467 % H46-1 LIB, SAH % EU543467 % H47-1 SAH % EU543467 % Escudroci ci al., 2028, Scinz-Escudroci ci al., 2024, Scinz-Escudroci ci al.,	H37_1	IAD	То же	FU543453		
	H38-6	IAD MEG	Марокко Тунис	EU543454 KF691509	Munoz et al 2008	
H39-1 JAD Mapokko EUS43455 Munoz et al., 2008 H40-2 ADH, SAH Tyrme, Jumus EUS43456, EUS43458, To æ H41-2 ADH Tyrme, Jumus EUS43456, EUS43450, * H42-1 ADH Tyrme, Jumus EUS43457, EUS43460 * H44-1 ADH To æ EUS43451 * * H44-1 ADH * EUS43461 * * H44-1 ADH * EUS43464 * * H45-1 LIB, SAH * EUS43467 * * H47-1 SAH * EUS43467 * * H49-1 GAR * EUS43467 * * H49-1 SAH * EUS43467 * * H49-1 SAR EUS43467 * * * H49-2 GAR, REL To æ EUS43471 * * * H50-1 WAD To æ EUS	1100 0		maponno, rynno	KF691510, KF691511.	Eimanifar et al., 2000,	
H30-1JADMapoxkoEUS43455, EUS43458Munoz et al., 2008H40-2ADH, SAHTytne, JunuarEUS43457, EUS43456, EUS43457NacH41-2ADHTo weEUS43457, EUS43460NacH42-1ADHTo weEUS43457, EUS43460NacH43-1ADHTo weEUS43461NacH43-1ADHNacEUS43462NacH45-1LIB, SAHNacEUS43466NacH47-1SAHNacEUS43466NacH47-1SAHNacEUS43466NacH49-2GAR, RELTo weEUS43468, KF691135Munoz et al., 2008, Sainz- Escudero et al., 2022H50-1GARNacEUS43469Munoz et al., 2008, Sainz- Escudero et al., 2022H51-1WADTo weEUS43470To weH52-1WADTo weEUS43470Nac et al., 2008, Sainz- Escudero et al., 2022H55-1SGIHranterEUS43470Munoz et al., 2008, Sainz- Escudero et al., 2022H55-1SGIHranterEUS43476Nac et al., 2008, Sainz- Escudero et al., 2008, Sainz- Escudero et al., 2022H55-1SGIHranterEUS43478Nac et al., 2008, Sainz- Escudero et al., 2022H55-1SGIHranterEUS43478Nac et al., 2008, Sainz- Escudero et al., 2008H56-1SGIHranterEUS43478Nac Escudero et al., 2002H55-1SGIHranterEUS43478Nac Escudero et al., 2002H56-1SGI<				KF691512, KF691513		
H40-2ADH, SAHTyrncEUS43456, EUS43458To xeH41-2ADH, LIBTyrnc, JunsanEUS43457, EUS43460*H42-1ADHTo xeEUS43457*H43-1ADHTo xeEUS43462*H44-1ADH*EUS43462*H45-1LIB, SAH*EUS43463*H47-1SAH*EUS43466*H47-1GARADKHPEUS43467*H48-1GARADKHPEUS43467*H49-2GAR, RELTo xeEUS43467*H49-1GAR*EUS43467*H30-1GAR*EUS43467*H31-1WADErtnerEUS43471*H51-1WADErtnerEUS43471*H52-1WADErtnerEUS43473Munoz et al., 2002H51-1WADErtnerEUS43473Munoz et al., 2003H51-1WADFrinerEUS43473Munoz et al., 2003H51-1WADTo xe**H53-1GIIИталияEUS43473Munoz et al., 2003H54-1SGIViranueEUS43476To xeH55-1SGIMunoz et al., 2004**H56-1SGIYiranueEUS43476*H57-1MOL*EUS43476*H58-1MOL*EUS43478*H59-1KGIYiranue**H59-1KGI* </td <td>H39-1</td> <td>JAD</td> <td>Марокко</td> <td>EU543455</td> <td>Munoz et al., 2008</td>	H39-1	JAD	Марокко	EU543455	Munoz et al., 2008	
H41-2ADHTynncEU54347, EU543460*H42-1ADHTo жeEU543461*H43-1ADHTo жeEU543462*H44-1LIB, SAH*EU543463*H45-1LIB, SAH*EU543463*H46-1LIB, SAH*EU543466*H47-1SAH*EU543466*H47-1GARAnæupEU543467%H49-2GAR, RELEU543467Munoz et al., 2008, Sainz-Escudero et al., 2022H50-1GARErunerEU543470To жeH51-1WADFrunerEU543471*H52-1WADTo жeEU543471*H53-1LIBTynncEU543471*H54-2CYP, LARKunpEU543473Munoz et al., 2008, Sainz-Escudero et al., 2022)H55-1SGIHTanusrEU543473Munoz et al., 2008, Sainz-Escudero et al., 2022)H55-1SGITo жeEU543473Munoz et al., 2022)H55-1MOL*EU543473Munoz et al., 2022)H55-1MOL*EU543473*H57-1MOL*EU543474Munoz et al., 2022H57-1MOL*EU543474*H58-1MOL*EU543481*H59-1MES*EU543481*H59-1MES*EU543483*H60-1MES*EU543484*H61-1VEL*<	H40-2	ADH, SAH	Тунис	EU543456, EU543458	То же	
H42-1ADHTyrucEUS43459*H43-1ADHTo xeEUS43461*H44-1ADH*EUS43463*H45-1LIB, SAH*EUS43464*H47-1SAH*EUS43464*H47-1SAH*EUS43467*H48-1GARAnxupEUS43467*H49-2GARTo xeEUS43467*H49-3GAR*EUS43467*H49-4GAR*EUS43467*H49-5GAR*EUS43469Munoz et al., 2008, Sainz-Escuelor et al., 2022H50-1GAR*EUS43471To xeH51-1WADTo racEUS43472*H52-1WADTo racEUS43473, OM486981Munoz et al., 2008, Sainz-Escuelor et al., 2022H55-1SGIIT anняEUS43476To xeH57-1MOLTo xeEUS43476To xeH57-1MOL*EUS43476To xeH57-1MOL*EUS43476Sainz-Escuelor et al., 2022H55-1SGITo xeSainseSainseH57-1MOL*EUS43476SainseH57-1MOL*EUS43476SainseH57-1MOL*EUS43476SainseH57-1MOL*EUS43476SainseH57-1MOL*EUS43476SainseH57-1MOL**EUS43476H58-1 <t< td=""><td>H41-2</td><td>ADH, LIB</td><td>Тунис, Ливия</td><td>EU543457, EU543460</td><td>»</td></t<>	H41-2	ADH, LIB	Тунис, Ливия	EU543457, EU543460	»	
H44-1ADHTo жеEUS43461*H44-1ADH*EUS43462*H45-1LIB, SAH*EUS43463*H46-1LIB, SAH*EUS43464*H47-1SAH*EUS43467*H47-1GARAnxwpEUS43467*H49-2GAR, RELTo жeEUS43468, KF691135Munoz et al., 2008, Sainz- Escudero et al., 2022H50-1GARFurmerEUS43470To жeH52-1WADTo жeEUS43471*H53-1LIBTynucEUS43473, OM486981Munoz et al., 2008, Sainz- Escudero et al., 2022H54-2CYP, LARKunpEUS43472*H55-1SGITo жeEUS43473Munoz et al., 2008, Sainz- Escudero et al., 2022H57-1MOL*EUS43473Munoz et al., 2008, Sainz- Escudero et al., 2022H57-1SGITo жeEUS43473*H57-1MOL*EUS43473*H57-1MOL*EUS43473*H57-1MOL*EUS43473*H57-1MOL*EUS43473*H58-1MOL*EUS43473*H59-1MES*EUS43483*H60-1WES***H61-1VELNoreEUS43483*H61-1VELNore**H64-1VEL*EUS43483*H65-1*DAPH<	H42-1	ADH	Тунис	EU543459	»	
H44-1ADH*EUS43462*H45-1LIB, SAH*EUS43463*H46-1LIB, SAH*EUS43466*H47-1SAH*EUS43467*H48-1GARADXHPEUS43467*H49-2GAR, RELTo xeEUS43468, KF691135Munoz et al., 2008, Sainz-Escudero et al., 2022H50-1GAR*EUS43469Munoz et al., 2008, Sainz-Escudero et al., 2022H50-1GAR*EUS43470To xeH51-1WADTo xeEUS43471*H52-1WADTo xeEUS43472*H53-1LIBTyuncEUS43473, OM486981Munoz et al., 2008, Sainz-Escudero et al., 2022H55-1SGIHTanuaEUS43473, OM486981Munoz et al., 2008, Sainz-Escudero et al., 2022H55-1SGIHTanuaEUS43473Munoz et al., 2008, Sainz-Escudero et al., 2022H55-1SGIHTanuaEUS43478*H56-1SGITo xeEUS43478*H57-1MOL*EUS43478*H60-1MES*EUS43481*H61-1VELNaceEUS43482*H61-1VELNaceEUS43481*H63-1VELNaceEUS43483*H64-1VELNaceEUS43485*H63-1VELNaceEUS43485*H64-1VELNaceEUS43485*H65-1*DAPH- <td< td=""><td>H43-1</td><td>ADH</td><td>То же</td><td>EU543461</td><td>»</td></td<>	H43-1	ADH	То же	EU543461	»	
H45-1LIB, SAH*EU543463*H46-1LIB, SAH*EU543464*H47-1SAH*EU543467*H48-1GARADX00pEU543467*H49-2GAR, RELTo xeEU543468, KF691135Munoz et al., 2008, Sainz-Escudero et al., 2022H50-1GAR*EU543470Munoz et al., 2008H51-1WADErunerEU543470To xeH52-1WADTo xeEU543472*H53-1LIBTynucEU543473, OM486981Munoz et al., 2008, Sainz-Escudero et al., 2022H54-2CYP, LARKumpEU543473, OM486981Munoz et al., 2008, Sainz-Escudero et al., 2022H55-1SGIИталияEU543473Munoz et al., 2008, Sainz-Escudero et al., 2022H55-1SGITo xeEU543473Munoz et al., 2008, Sainz-Escudero et al., 2022H55-1MOL*EU543474Munoz et al., 2008H55-1MOL*EU543478*H56-1MES*EU543478*H58-1MOL*EU543478*H59-1MES*EU543481*H60-1MES*EU543478*H61-1VELNoxHas AdputaEU543482*H62-1VEL*EU543483*H64-1VEL*EU543483*H64-1VEL*EU543485*H64-1KIRTo xe**H64-1 <t< td=""><td>H44-1</td><td>ADH</td><td>»</td><td>EU543462</td><td>»</td></t<>	H44-1	ADH	»	EU543462	»	
H46-1LB, SAH*EU543464*H47-1SAH*EU543466*H48-1GARArxkupEU543467*H49-2GAR, RELTo xeEU543469, KF691135Munoz et al., 2008, Sainz-Escudero et al., 2022H50-1GAR*EU543469Munoz et al., 2008, Sainz-Escudero et al., 2022H50-1GAR*EU543470To xeH51-1WADErunerEU543471*H52-1WADTo xeEU543473, OM486981Munoz et al., 2008, Sainz-Escudero et al., 2022H55-1SGIИталияEU543473, OM486981Munoz et al., 2008, Sainz-Escudero et al., 2022H55-1SGIИталияEU543476*H56-1SGITo xeEU543476*H57-1MOL*EU543476*H58-1MOL*EU543476*H58-1MOL*EU543476*H58-1MOL*EU543476*H58-1MOL*EU543476*H58-1MOL*EU543476*H59-1MES**H60-1WEL*EU543476*H61-1VELNot ***H62-1VEL*EU543476*H63-1VEL***H64-1VEL***H65-1*DAPH-**H65-1*DAPH-**H65-1*	H45-1	LIB, SAH	»	EU543463	»	
H47-1SAH*EU543466*H48-1GARАлжирEU543467*H49-2GAR, RELTo æEU543468, KF691135Munoz et al., 2028, Sainz- Escudero et al., 2022H50-1GAR*EU543469Munoz et al., 2008H51-1WADErunerEU543470To æH52-1WADTo æEU543471*H53-1LIBTynucEU543471*H54-2CYP, LARKumpEU543472*H54-1SGIHraлияEU543476Munoz et al., 2028, Sainz- Escudero et al., 2022H55-1SGIИталияEU543476To æH57-1MOL*EU543476*H57-1MOL*EU543476*H58-1MOL*EU543476*H58-1MOL*EU543476*H59-1MES*EU543476*H60-1MES*EU543476*H61-1VELTo æEU543481*H62-1VELNo**H63-1MES*EU543481*H64-1VELTo æEU543481*H65-1*DAPH-H0972028-H66-2RELArxupKF691131, KF69134Eimanifar et al., 2014H67-1RELTo æ**H66-2RELTo æ**H70-1SFA***H70-1SFA* <td>H46-1</td> <td>LIB, SAH</td> <td>»</td> <td>EU543464</td> <td>»</td>	H46-1	LIB, SAH	»	EU543464	»	
H48-1 H49-2 GAR, RELGAR To жеEU543467 EU543468, KF691135*H50-1 H50-1GAR, RELTo жеEU543468, KF691135Munoz et al., 2022 Escudero et al., 2022H50-1GAR*EU543469Munoz et al., 2028H51-1WADTo жеEU543470To жеH52-1WADTo жеEU543471*H53-1LIBTyrucEU543472*H54-2CYP, LARKunpEU543474Munoz et al., 2008, Sainz-Escudero et al., 2022)H55-1SGIИталияEU543474Munoz et al., 2008H56-1SGIИталияEU543476To жеH57-1MOL*EU543476To жеH57-1MOL*EU543476*H58-1MOL*EU543479*H59-1MES*EU543481*H60-1MES*EU543481*H61-1VELIO жеEU543481*H62-1VELNaceEU543483*H63-1VEL*EU543485*H64-1VEL*EU543485*H65-1*DAPH-HQ972028-H66-2RELArxирKF691134*H67-1RELArxирKF691514*H68-1MEGTyrucKF691514*H69-4SFATo жеKF691515*H70-1SFATo жеKF691516*H71-1LARKurp<	H47-1	SAH	»	EU543466	»	
H49-2 H50-1GAR, RELTo жеEU543468, KF691135 Escuero et al., 2023 Escuero et al., 2023 H50-1Munoz et al., 2008, Sainz- Escuero et al., 2023H50-1GAR>E1/4167Escuero et al., 2023H51-1WADEr/4167EU543470To жеH52-1WADTo жеEU543471>H53-1LIBTyrntcEU543471>H54-2CYP, LARKumpEU543473, OM486981Munoz et al., 2008, Sainz- Escuero et al., 2022)H55-1SGIИталияEU543474Munoz et al., 2008H56-1SGITo жеEU543476To жеH57-1MOL>EU543478>H58-1MOL>EU543479>H59-1MES>EU543480>H60-1MES>EU543480>H61-1VELЮжная АфрикаEU543481>H63-1VEL>EU543482>H63-1VEL%EU543481>H63-1VELNaceEU543483>H64-1VEL%EU543481>H65-1*DAPH-HQ972028-H66-2RELArxupKF691514%H67-1RELTo жeKF691514>H68-1MEGTyrnucKF691514\$H69-4SFATo жeKF691518Sainz-Escudero et al., 2022H70-1SFANaceOM486980Sainz-Escudero et al., 2022H70-1	H48-1	GAR	Алжир	EU543467	»	
InstructionExcudero et al., 2022H50-1GAR \ast EU543469Munoz et al., 2008H51-1WADErnmerEU543470To æH52-1WADTo æEU543471 \ast H53-1LIBTynneEU543472 \ast H54-2CYP, LARKmpEU543473, OM486981Munoz et al., 2008, Sainz-Escudero et al., 2029,H55-1SGIИталияEU543474Munoz et al., 2008, Sainz-Escudero et al., 2029H56-1SGITo æEU543476To æH57-1MOL \ast EU543470 \ast H58-1MOL \ast EU543470 \ast H58-1MOL \ast EU543470 \ast H59-1MES \ast EU543480 \ast H60-1MES \ast EU543480 \ast H61-1VELЮжная АфрикаEU543483 \ast H62-1VELTo æEU543483 \ast H64-1VEL \ast EU543484 \ast H65-1*DAPH $-$ HQ972028 $-$ H66-2RELAлжирKF691516 \ast H66-1MEGTynneKF691516 \ast H68-1MEGTynneKF691516 \ast H69-4SFATo æKF691516 \ast H70-1SFA \bullet KF691516 \ast H71-1LARKumpOM486983 \ast H71-1LARKumpOM486983 \ast H71-1FORMapokkoOM486983 \ast <td>H49-2</td> <td>GAR, REL</td> <td>То же</td> <td>EU543468, KF691135</td> <td>Munoz et al., 2008, Sainz-</td>	H49-2	GAR, REL	То же	EU543468, KF691135	Munoz et al., 2008, Sainz-	
H50-1GAR*EU543469Munoz et al., 2008H51-1WADErипетEU543470To жеH52-1WADTo жеEU543471*H53-1LIBTyнисEU543472*H54-2CYP, LARKunpEU543473, OM486981Munoz et al., 2008, Sainz-Escudero et al., 2022)H55-1SGIИталияEU543476To жеH57-1MOL*EU543478*H57-1MOL*EU543478*H58-1MOL*EU543478*H59-1MES*EU543480*H60-1MES*EU543481*H61-1VELЮжная АфрикаEU543482*H62-1VELТo жеEU543482*H64-1VEL*EU543483*H64-1VEL*EU543483*H64-1VEL*EU543485*H64-1NPH-HQ72028-H66-2RELАлжирKF691134Eimanifar et al., 2014H67-1RELTo жеKF691516*H67-1SFA*KF691518, KF691517*H70-1SFA*MapockoM486980Sainz-Escudero et al., 2022H70-1SFA*MapockoM486981*H71-1LARKurnpOM486982, OM486984, OM486984, OM486985*H73-1SIDTo жeOM486983, OM486992*H73-1SIDTo жe					Escudero et al., 2022	
H51-1 WAD Египет EU543470 To же H52-1 WAD To же EU543471 * H53-1 LIB Тунис EU543472 * H54-2 CYP, LAR Kunp EU543473, OM486981 Munoz et al., 2008, Sainz-Escudero et al., 2022) H55-1 SGI Италия EU543474 Munoz et al., 2008 H56-1 SGI To же EU543476 To же H57-1 MOL * EU543478 * H58-1 MOL * EU543478 * H58-1 MOL * EU543478 * H59-1 MES * EU543478 * H60-1 MES * EU543481 * H61-1 VEL To же EU543482 * H62-1 VEL * EU543483 * H64-1 VEL * EU543483 * H64-1 VEL * EU543484 * H	H50-1	GAR	»	EU543469	Munoz et al., 2008	
H52-1 WAD То же EU543471 * H53-1 LIB Тунис EU543472 * H54-2 CYP, LAR Кипр EU543473, OM486981 Munoz et al., 2008, Sainz- Ecudeo et al., 2022) H55-1 SGI Италия EU543474 Munoz et al., 2029 H55-1 SGI To же EU543476 To же H57-1 MOL * EU543478 * H58-1 MOL * EU543478 * H58-1 MOL * EU543478 * H60-1 MES S EU543481 * H61-1 VEL Now and Adpurka EU543481 * H62-1 VEL No æ EU543483 * H63-1 VEL * EU543483 * H64-1 VEL * EU543484 * H64-1 VEL * EU543485 * H65-1* DAPH - H097028 - *	H51-1	WAD	Египет	EU543470	То же	
H53-1 LIB Тунис EU543472 * H54-2 СҮР, LAR Кипр EU543473, OM486981 Munoz et al., 2008, Sainz-Escudero et al., 2029 H55-1 SGI Италия EU543474 Munoz et al., 2029 H55-1 SGI To же EU543476 To же H57-1 MOL * EU543478 * H58-1 MOL * EU543479 * H58-1 MOL * EU543479 * H60-1 MES * EU543481 * H60-1 MES * EU543481 * H61-1 VEL Южная Африка EU543483 * H62-1 VEL To же EU543483 * H64-1 VEL * EU543483 * H64-1 VEL * EU543485 * H64-1 VEL * EU543485 * H65-1* DAPH - H0970228 - H6	H52-1	WAD	То же	EU543471	»	
H54-2 СҮР, LAR Кипр EU543473, OM486981 Munoz et al., 2008, Sainz-Escudero et al., 2029 H55-1 SGI Италия EU543474 Munoz et al., 2008 H56-1 SGI To же EU543476 To же H57-1 MOL * EU543478 * H58-1 MOL * EU543479 * H59-1 MES * EU543480 * H60-1 MES * EU543481 * H61-1 VEL Now Representation * * H62-1 VEL To же EU543481 * H64-1 VEL New EU543484 * H64-1 VEL * EU543485 * H64-1 </td <td>H53-1</td> <td>LIB</td> <td>Тунис</td> <td>EU543472</td> <td>»</td>	H53-1	LIB	Тунис	EU543472	»	
Калания Електропорации Escudero et al., 2022) H55-1 SGI Италия EU543474 Munoz et al., 2008 H56-1 SGI To же EU543476 To же H57-1 MOL * EU543478 * H58-1 MOL * EU543480 * H59-1 MES * EU543480 * H60-1 MES * EU543481 * H61-1 VEL Южная Африка EU543482 * H62-1 VEL To же EU543483 * H64-1 VEL Южная Африка EU543483 * H64-1 VEL To же EU543485 * H65-1* DAPH - HQ972028 - H66-2 REL Алжир KF691133, KF691134 Eimanifar et al., 2014 H67-1 REL To же KF691515, KF691517, KF691518, KF691519 * * H68-1 MEG Тунис KF691516 *	H54–2	CYP, LAR	Кипр	EU543473, OM486981	Munoz et al., 2008, Sainz-	
Н55-1 SGI Италия EU543474 Munoz et al., 2008 H56-1 SGI То же EU543476 To же H57-1 MOL * EU543478 * H58-1 MOL * EU543479 * H58-1 MOL * EU543480 * H59-1 MES * EU543480 * H60-1 MES * EU543481 * H61-1 VEL Южная Африка EU543481 * H62-1 VEL To же EU543483 * H63-1 VEL * EU543483 * H64-1 VEL * EU543484 * H65-1* DAPH - HQ97028 - - H66-2 REL To же KF691134 Eimanifar et al., 2014 * H67-1 REL To же KF691515, KF691517, KF691518, KF691519 * * H70-1 SFA * Maporko		- ,	r		Escudero et al., 2022)	
H56-1 SGI То же EU543476 То же H57-1 MOL » EU543478 » H58-1 MOL » EU543479 » H59-1 MES » EU543480 » H60-1 MES » EU543480 » H61-1 VEL Южная Африка EU543482 » H62-1 VEL To же EU543483 » H62-1 VEL To же EU543482 » H64-1 VEL * EU543483 » H64-1 VEL * EU543484 » H64-1 VEL * EU543485 » H65-1* DAPH - HQ972028 - - H66-2 REL Алжир KF691513 KF691514 » H67-1 REL To же KF691514 » * H67-1 REL To же KF691518 Sianz-Escudero et al., 2022 <tr< td=""><td>H55-1</td><td>SGI</td><td>Италия</td><td>EU543474</td><td>Munoz et al., 2008</td></tr<>	H55-1	SGI	Италия	EU543474	Munoz et al., 2008	
H57-1 MOL » EU543478 » H58-1 MOL » EU543479 » H59-1 MES » EU543480 » H60-1 MES » EU543481 » H61-1 VEL Южная Африка EU543482 » H62-1 VEL To жe EU543483 » H63-1 VEL N EU543484 » H64-1 VEL N EU543485 » H64-1 VEL N EU543485 » H65-1* DAPH - HQ972028 - H66-2 REL Алжир KF691133, KF691134 Eimanifar et al., 2014 H67-1 REL To жe KF691516, KF691519 N H68-1 MEG Тунис KF691516, KF691519 N H70-1 SFA N KF691516 % H71-1 LAR Кипр OM486980 Sainz-Escudero et al., 2022 H72-3 <td>H56-1</td> <td>SGI</td> <td>То же</td> <td>EU543476</td> <td>То же</td>	H56-1	SGI	То же	EU543476	То же	
H58-1 MOL » EU543479 » H59-1 MES » EU543480 » H60-1 MES » EU543481 » H61-1 VEL Южная Африка EU543482 » H62-1 VEL To же EU543483 » H63-1 VEL % EU543484 » H64-1 VEL » EU543485 » H65-1* DAPH - HQ97028 - H66-2 REL Алжир KF691133, KF691134 Eimanifar et al., 2014 H67-1 REL To же KF691514 » H68-1 MEG Тунис KF691515, KF691517, KF691518, KF691519 » H70-1 SFA % KF691516 » H71-1 LAR Кипр OM486980 Sainz-Escudero et al., 2022 H72-3 SID Марокко OM486983, % H74-1 FOR Испания OM486981, OM486982 > <td>H57-1</td> <td>MOL</td> <td>»</td> <td>EU543478</td> <td>»</td>	H57-1	MOL	»	EU543478	»	
H59-1 MES * EU543480 * H60-1 MES * EU543481 * H61-1 VEL Южная Африка EU543482 * H62-1 VEL To же EU543483 * H63-1 VEL To же EU543483 * H64-1 VEL * EU543485 * H65-1* DAPH - HQ972028 - H66-2 REL Алжир KF691133, KF691134 Eimanifar et al., 2014 H67-1 REL To же KF691516 * H68-1 MEG Тунис KF691518, KF691517, KF691518, KF691519 * H70-1 SFA To же KF691516 * H71-1 LAR Кипр OM486980 Sainz-Escudero et al., 2022 H72-3 SID Марокко OM486983 * H73-1 SID To же OM486983 * H74-1 FOR Испания OM486983 * <	H58-1	MOL	»	EU543479	»	
H60-1 MES » EU543481 » H61-1 VEL Южная Африка EU543482 » H62-1 VEL To же EU543483 » H63-1 VEL * EU543484 » H64-1 VEL * EU543485 » H65-1* DAPH - HQ972028 - H66-2 REL Алжир KF691133, KF691134 Eimanifar et al., 2014 H67-1 REL To же KF691516 To же H68-1 MEG Тунис KF691515, KF691517, KF691518, KF691519 » H70-1 SFA To же KF691516 » H71-1 LAR Кипр OM486980 Sainz-Escudero et al., 2022 H72-3 SID Марокко OM486982, OM486984, OM486985 To же H73-1 SID To же OM486983 » H74-1 FOR Испания OM486983 > H75-2 BRU To же OM486993,	H59-1	MES	»	EU543480	»	
Нб1-1 VEL Южная Африка ЕU543482 » Нб2-1 VEL То же EU543483 » Нб3-1 VEL » EU543484 » Н64-1 VEL » EU543485 » H64-1 VEL » EU543485 » H65-1* DAPH - HQ972028 - H66-2 REL Алжир KF691133, KF691134 Eimanifar et al., 2014 H67-1 REL To же KF691516 To же H68-1 MEG Тунис KF691515, KF691517, KF691518, KF691519 » H70-1 SFA To же KF691516 » H71-1 LAR Кипр OM486980 Sainz-Escudero et al., 2022 H72-3 SID То же OM486983 » H73-1 SID То же OM486983 » H74-1 FOR Испания OM486983 » H75-2 BRU То же > >	H60-1	MES	»	EU543481	»	
Н62-1 VEL То же EU543483 » H63-1 VEL » EU543484 » H64-1 VEL » EU543485 » H64-1 VEL » EU543485 » H65-1* DAPH - HQ972028 - H66-2 REL Алжир KF691133, KF691134 Eimanifar et al., 2014 H67-1 REL То же KF691516 To же H68-1 MEG Тунис KF691517, KF691518, KF691519 » H70-1 SFA To же KF691516 » H71-1 LAR Кипр OM486980 Sainz-Escudero et al., 2022 H72-3 SID Марокко OM486983 » H74-1 FOR Испания OM486983 » H75-2 BRU To же OM486991, OM486992 » H76-2 LAG » OM48693, OM486994 »	H61-1	VEL	Южная Африка	EU543482	»	
Н63-1 VEL » EU543484 » H64-1 VEL » EU543485 » H65-1* DAPH - HQ972028 - H66-2 REL Алжир KF691133, KF691134 Eimanifar et al., 2014 H67-1 REL То же KF691136 To же H68-1 MEG Тунис KF691514 » H69-4 SFA To же KF691515, KF691517, KF691518, KF691519 » H70-1 SFA N KF691516 » H71-1 LAR Кипр OM486980 Sainz-Escudero et al., 2022 H72-3 SID Марокко OM486983 N H74-1 FOR Испания OM486983 » H75-2 BRU To же OM486991, OM486992 » H76-2 LAG » OM486993, OM486994 »	H62-1	VEL	То же	EU543483	»	
Нб4-1 VEL » EU543485 » H65-1* DAPH – HQ972028 – H66-2 REL Алжир KF691133, KF691134 Eimanifar et al., 2014 H67-1 REL To же KF691136 To же H68-1 MEG Тунис KF691514 » H69-4 SFA To же KF691515, KF691517, KF691518, KF691519 » H70-1 SFA » KF691516 » H71-1 LAR Кипр OM486980 Sainz-Escudero et al., 2022 H72-3 SID Марокко OM486983 » H74-1 FOR Испания OM486983 » H75-2 BRU To же OM486991, OM486992 » H76-2 LAG » OM486993, OM486994 »	H63-1	VEL	»	EU543484	»	
Нб5-1* DAPH – HQ972028 – H65-1* DAPH – HQ972028 – H66-2 REL Алжир KF691133, KF691134 Eimanifar et al., 2014 H67-1 REL To же KF691136 To же H68-1 MEG Тунис KF691514 » H69-4 SFA To же KF691515, KF691517, KF691518, KF691519 » H70-1 SFA » KF691516 » H71-1 LAR Kunp OM486980 Sainz-Escudero et al., 2022 H72-3 SID Mapokko OM486983 » H73-1 SID To же OM486983 » H74-1 FOR Испания OM486988 » H75-2 BRU To же OM486991, OM486992 » H76-2 LAG » OM486993, OM486994 »	H64–1	VEL	»	EU543485	»	
Нос 1 Р.К. И. Алжир К. С. Ф. В. В. И. Еimanifar et al., 2014 Н66-2 R.E.L То же К. С. Ф. В.	H65–1*	DAPH	_	HO972028	_	
Ного 2 Настранир Настранир Настранир Настранир Настранир H67-1 REL То же КF691136 То же H68-1 MEG Тунис КF691514 » H69-4 SFA То же КF691515, KF691517, KF691519 » H70-1 SFA To же KF691516 » H71-1 LAR Кипр OM486980 Sainz-Escudero et al., 2022 H72-3 SID Марокко OM486983 » H74-1 FOR Испания OM486983 » H75-2 BRU То же OM486991, OM486992 » H76-2 LAG » OM486993, OM486994 »	H66-2	REL	Алжир	KF691133 KF691134	Eimanifar et al 2014	
H68-1 MEG Тунис KF691514 » H69-4 SFA To же KF691515, KF691517, KF691517, KF691519 » H70-1 SFA » KF691516 » H71-1 LAR Кипр OM486980 Sainz-Escudero et al., 2022 H72-3 SID Mapokko OM486983 To же H74-1 FOR Испания OM486988 » H75-2 BRU To же OM486993, OM486992 » H76-2 LAG » OM486993, OM486994 »	H67-1	REL	То же	KF691136	То же	
H69-4 SFA To же KF691515, KF691517, KF691517, KF691519 » H70-1 SFA » KF691516 » H71-1 LAR Кипр OM486980 Sainz-Escudero et al., 2022 H72-3 SID Марокко OM486982, OM486984, OM486984, OM486985 To же H73-1 SID To же OM486983 » H74-1 FOR Испания OM486988 » H75-2 BRU To же OM486993, OM486992 » H76-2 LAG » OM486993, OM486994 »	H68-1	MEG	Тунис	KF691514	»	
HTO INT ПО ЖО INTO STAT, KEO ISTA, MEO ISTA, MEO ISTA, KEO ISTAT, KEO ISTA, KEO ISTA, KEO ISTA, KEO ISTAT, KEO ISTA, KEO ISTAT, KEO ISTA, KE	H69-4	SFA	То же	KF691515 KF691517	»	
H70-1 SFA » KF691516 » H71-1 LAR Кипр OM486980 Sainz-Escudero et al., 2022 H72-3 SID Марокко OM486982, OM486984, OM486985 To же H73-1 SID To же OM486983 » H74-1 FOR Испания OM486988 » H75-2 BRU To же OM486991, OM486992 » H76-2 LAG » OM486993, OM486994 »	1107			KF691518, KF691519		
Н71-1 LAR Кипр ОМ486980 Sainz-Escudero et al., 2022 H72-3 SID Марокко ОМ486982, ОМ486984, ОМ486985 To же H73-1 SID То же ОМ486983 * H74-1 FOR Испания ОМ486988 * H75-2 BRU То же ОМ486991, ОМ486992 * H76-2 LAG * ОМ486993, ОМ486994 *	H70-1	SFA	»	KF691516	»	
H72-3 SID Марокко OM486982, OM486984, OM486985 To же H73-1 SID To же OM486983 > H74-1 FOR Испания OM486988 > H75-2 BRU To же OM486991, OM486992 > H76-2 LAG > OM486993, OM486994 >	H71–1	LAR	Кипр	OM486980	Sainz-Escudero et al., 2022	
H72-5 БПБ Паронко ОМ 180902, ОМ 180904, По же OM486985 ОМ486983 » H74-1 FOR Испания ОМ486988 » H75-2 BRU То же ОМ486991, ОМ486992 » H76-2 LAG » ОМ486993, ОМ486994 » Примечание, * – нуклеотидная последовательность использовалась в качестве внешней группы: "-" ланные отсутствуют	H72-3	SID	Марокко	OM486982 OM486984	То же	
H73-1 SID То же OM486983 » H74-1 FOR Испания OM486988 » H75-2 BRU То же OM486991, OM486992 » H76-2 LAG » OM486993, OM486994 »		512	in ap on the	OM486985		
Н74–1 FOR Испания ОМ486988 » H75–2 BRU То же ОМ486991, ОМ486992 » H76–2 LAG » ОМ486993, ОМ486994 » Примечание.* – нуклеотидная последовательность использовалась в качестве внешней группы: "–" ланные отсутствуют	H73–1	SID	То же	OM486983	»	
H75-2 BRU To же OM486991, OM486992 » H76-2 LAG » OM486993, OM486994 » Примечание. * - нуклеотидная последовательность использовалась в качестве внешней группы: "-" ланные отсутствуют	H74–1	FOR	Испания	OM486988	»	
Н76-2 LAG » ОМ486993, ОМ486994 » Примечание. * - нуклеотидная последовательность использовалась в качестве внешней группы: "-" ланные отсутствуют •	H75-2	BRU	То же	OM486991, OM486992	»	
Примечание. * – нуклеотилная последовательность использовалась в качестве внешней группы: "–" ланные отсутствуют	H76–2	LAG	*	OM486993. OM486994	»	
	Примечание *	— нуклеотилная последов	I ательность использовалае	ь в качестве внешней группы.	"—" ланные отсутствуют	

Таблица 1. Окончание

neenedobamba n. saana									
Ν	S	h	H _d	π	k	М			
135	109	76	0.982	0.01868	9.6	115			

Таблица 2. Популяционно-генетические параметры исследованных *A. salina*

Примечание. h – число гаплотипов, H_d – гаплотипическое разнообразие, k – среднее число нуклеотидных различий на популяцию, M – общее число нуклеотидных замен, N – число образцов, π – нуклеотидное разнообразие, S – число вариабельных сайтов.

А. franciscana характерны более низкие значения гаплотипического разнообразия H_d (0.54) (Еітапifar, 2014), чем для A. salina (0.98) (табл. 2). Для коренных обитателей Евразии также отмечены более высокие значения H_d : A. sinica – 0.86, A. urmiana – 0.90, A. tibetiana – 0.98 (Еітапіfar, 2014). Можно предположить, что найденные уникальные гаплотипы A. salina будут обнаружены и в других популяциях вида из гиперсоленых водоемов п-ова Крым. Не вызывает сомнений, что при дальнейших более масштабных исследованиях разнообразие гаплотипов существенно увеличится.

На рис. 1 дана карта ареала обитания *A. salina* с указанием мест расположения 37 различных локальных популяций, данные по которым приведены в табл. 1. Исследованные в нашей работе особи из двуполых популяций оз. Сасык-Сиваш образовали общую кладу с *A. salina* из Туниса, Ливии и Кипра (рис. 1: выделенная область на филогенетическом дереве). Анализ данных позволил выделить в структуре гаплотипической сети группу, в которую входят уникальные гаплотипы *A. salina* из Ливии, Туниса, Египта, Кипра и Крыма, не обнаруженные в западной части средиземноморского региона (рис. 2: пунктирная область). Возможно, места обитания этих уникальных популяций можно отнести к плейстоценовым рефугиумам.

Выделенная группа популяций характеризуется уникальным генетическим разнообразием. Следует отметить, что западно-средиземноморские популяции с множеством общих гаплотипов находятся в одном миграционном коридоре птиц. Можно считать, что между популяциями существует регулярный обмен генами за счет транспортировки цист мигрирующими птицами (Green et al., 2005). Ранее было убедительно показано, что структура миграционных путей птиц – важный фактор, определяющий филогеграфию Artemia (Munoz et al., 2013). Подобное предположение было сделано и для другого вида ракообразных (копеподы Arctodiaptomus salinus (Daday, 1885)), также имеющего покоящиеся яйца и широко распространенного в Средиземноморско-Черноморском регионе (Anufriieva, Shadrin, 2015).

Появление инвазионных видов Artemia, в первую очередь A. monica (=A. franciscana), может повлечь за собой сокращение крымского ареала A. salina и, следовательно, быстрое и значительное снижение генетического разнообразия. Важно отметить, что высокой адаптируемости A. monica (возможно, и других видов Artemia) в новых условиях обитания способствует наличие различ-



Рис. 2. Генеалогические связи между COI гаплотипами из популяций *A. salina* (TCS сеть). Пунктирной линией выделены уникальные гаплотипы из Ливии, Туниса, Египта, Кипра и Крыма. Черные точки — число мутаций; в скобках — число нуклеотидных замен. Жирным курсивом указана популяция озера Сасык-Сиваш (*SS*).

ных альтернативных паттернов экспрессии генов (De Vos et al., 2021; Lee et al., 2022). Таким образом, наличие альтернативных вариантов реализации генотипа обеспечивает возможность перехода в новых условиях от одних гомеостатических стратегий к другим, что может повышать инвазивность и адаптацию вида к новым местам обитаниям. Однако, исходя из большого разнообразия и временной изменчивости гиперсоленых водоемов в Крыму, высокой адаптивной способности видов Artemia и наличие у них цист, можно с высокой степенью вероятности предположить, что все четыре двуполых вида Artemia будут устойчиво сосуществовать с партеногенетическими популяциями в Крыму, сменяя друг друга. Будет ли при этом снижаться генетическое разнообразие аборигенных популяций A. salina, смогут показать лишь дальнейшие многолетние исследования.

Выводы. Изучение филогенетических связей и филогеографической структуры популяций A. salina, проведенное по митохондриальному маркерному гену COI, позволило выделить две разнородные группы популяций. Для западно-средиземноморских популяций характерно наличие множества общих гаплотипов. что может быть обусловлено их расположением в одном миграционном коридоре птиц. Географически изолированные группы популяций из Ливии, Туниса, Египта, Кипра и Крыма характеризуются уникальными гаплотипами, не встречающимися в западной части средиземноморского региона. В крымской популяции артемии зарегистрированы уникальные, предположительно эндемичные для Крыма, гаплотипы. Появление инвазионных видов Artemia, в первую очередь A. monica (=A. franciscana), может повлечь за собой быстрое сокращение крымского ареала A. salina и вызванное этим значительное снижение генетического разнообразия вида.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Генетические исследования проведены в рамках программы "Приоритет — 2030" Севастопольского гос. университета (стратегический проект № 3, № 121121700318-1). Полевые исследования оз. Сасык-Сиваш выполнены в рамках Госзадания Института биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН № 121041500203-3 "Изучение особенностей структуры и динамики экосистем соленых озер и лагун в условиях климатической изменчивости и антропогенной нагрузки для создания научных основ их рационального использования".

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Балушкина Е.В., Голубков С.М., Голубков М.С. и др. 2009. Влияние абиотических и биотических факторов на структурно-функциональную организацию

БИОЛОГИЯ ВНУТРЕННИХ ВОД № 5 2023

экосистем соленых озер Крыма // Журн. общ. биол. Т. 70. № 6. С. 504.

Adamowicz S.J., Purvis A. 2005. How many branchiopod crustacean species are there? Quantifying the components of underestimation // Global Ecol. Biogeogr. V. 14. P. 455.

https://doi.org/10.1111/j.1466-822X.2005.00164.x

Adamowicz S.J., Menu-Marque S., Hebert P.D., Purvis A. 2007. Molecular systematics and patterns of morphological evolution in the Centropagidae (Copepoda: Calanoida) of Argentina // Biol. J. Linnean Soc. V. 90. P. 279.

https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2007.00723.x

- Anufriieva E.V., Shadrin N.V. 2015. Morphometric variability of Arctodiaptomussalinus (Copepoda) in the Mediterranean-Black Sea region // Zool. Res. V. 18. № 36(6). P. 328.
- Anufriieva E., Kolesnikova E., Revkova T. et al. 2022. Human-Induced Sharp Salinity Changes in the World's Largest Hypersaline Lagoon Bay Sivash (Crimea) and Their Effects on the Ecosystem // Water. V. 14 (3)403. https://doi.org/10.3390/w14030403
- De Gelas K., De Meester L. 2005. Phylogeography of Daphnia magna in Europe // Mol. Ecol. V. 14. P. 753. https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2004.02434.x
- *De Meester L., Gómez A., Okamura B., Schwenk K.* 2002. The Monopolization hypothesis and the dispersal-gene flow paradox in aquatic organisms // Acta Oecologica. V. 23. P. 121.

https://doi.org/10.1016/S1146-609X(02)01145-1

- De Vos S., Rombauts S., Coussement L. et al. 2021. The genome of the extremophile Artemia provides insight into strategies to cope with extreme environments // BMC Genom. V. 22 (1). P. 1. https://bmcgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12864-021-07937-z
- Eimanifar A., Van Stappen G., Marden B., Wink M. 2014. Artemia biodiversity in Asia with the focus on the phylogeography of the introduced American species Artemia franciscana Kellogg, 1906. // Mol. Phylogen. and Evol. V. 79. P. 392. https://doi.org/10.1016/j.ympev.2014.06.027
- Frisch D., Green A.J., Figuerola J. 2007. High dispersal capacity of a broad spectrum of aquatic invertebrates via waterbirds // Aquat. Sci. V. 69(4). P. 568. https://doi.org/10.1007/s00027-007-0915-0
- Fontaneto D. 2019. Long-distance passive dispersal in microscopic aquatic animals // Mol. Ecol. V. 7. P. 10. https://doi.org/10.1186/s40462-019-0155-7
- Green A.J., Sánchez M.I., Amat F. et al. 2005. Dispersal of invasive and native brine shrimps Artemia (Anostraca) via waterbirds // Limnol., Oceanogr. V. 50. P. 737.
- *Gómez A., Carvalho G.R., Lunt D.H.* 2000. Phylogeography and regional endemism of a passively dispersing zooplankter: mitochondrial DNA variation in rotifer resting egg banks // Proc. Royal Soc. Series B. V. 267. P. 2189.

https://doi.org/10.4319/lo.2005.50.2.0737

Gómez A., Serra M., Carvalho G.R., Lunt D.H. 2002. Speciation in ancient cryptic species complexes: evidence from the molecular phylogeny of *Brachionus plicatilis* (Rotifera) // Evolution. V. 56. P. 1431. https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2002.tb01455.x Gómez, A., Montero-Pau J., Lunt D.H. et al. 2007. Persistent genetic signatures of colonization in Brachionus maniavacas rotifers in the Iberian Peninsula // Mol. Ecol. V. 16. P. 3228.

https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03372.x

- Hebert P.D. 1998. Variable environments and evolutionary diversification in inland waters // Adv. Mol. Ecol. P. 267.
- Hebert P.D., Witt J.D., Adamowicz S.J. 2003. Phylogeographical patterning in Daphnia ambigua: Regional divergence and intercontinental cohesion // Limnol., Oceanogr. V. 48. P. 261. https://doi.org/10.4319/lo.2003.48.1.0261
- Hessen D.O., Jensen T.C., Walseng B. 2019. Zooplankton diversity and dispersal by birds; insights from different geographical scales // Frontiers in Ecol. and Evol. V. 20. P. 7.

https://doi.org/10.3389/fevo.2019.00074

- Hall T., Biosciences I., Carlsbad C. 2011. BioEdit: an important software for molecular biology // GERF Bull Biosci. V. 2(1) P. 60.
- Ishida S., Taylor D.J. 2007. Mature habitats associated with genetic divergence despite strong dispersal ability in an arthropod // BMC Evol. Biol. V. 7. P. 52. https://doi.org/10.1186/1471-2148-7-52
- Kumar S., Stecher G., Li M. et al. 2018. MEGAX: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms // Mol. Biol. Evol. V. 35(6). P. 1547. https://doi.org/10.1093/molbev/msy096
- Lantushenko A., Meger Y., Gadzhi A. et al. 2022. Artemia spp. (Crustacea, Anostraca) in Crimea: New Molecular Genetic Results and New Questions without Answers // Water. V. 14(17). P. 2617. https://doi.org/10.3390/w14172617
- Le J., Cho B.C., Park J.S. 2022. Transcriptomic analysis of brine shrimp Artemia franciscana across a wide range of salinities // Mar. Genom. V. 61: 100919. https://doi.org/10.1016/j.margen.2021.100919
- Leigh J.W., Brvant D. 2015, POPART: full-feature software for haplotype network construction // Meth. Ecol. and Evol. V. 6. № 9. P. 1110. https://doi.org/10.1111/2041-210X.12410
- Marden B., Brown P., Bosteels T. 2020. Great Salt Lake Artemia: ecosystem functions and services with a global reach // Great Salt Lake Biol. P. 175. https://doi.org/10.1080/10454438.2018.1484838
- Mergeay J., Verschuren D., De Meester L. 2005. Cryptic invasion and dispersal of an American Daphnia in East Africa // Limnol., Oceanogr. V. 50. P. 1278. https://doi.org/10.4319/lo.2005.50.4.1278
- Munoz J., Gomez A., Green A.J. et al. 2008. Phylogeography and local endemism of the native Mediterranean brine shrimp Artemia salina (Branchiopoda: Anostraca) // Mol. Ecol. V. 17(13). P. 3160. https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03818.x
- Muñoz J., Amat F., Green A.J. et al. 2013. Bird migratory flyways influence the phylogeography of the invasive brine shrimp Artemia franciscana in its native American range // Peer J. V. 1. P. 200. https://doi.org/10.7717/peerj.200
- Naceur H.B., Romdhan M.S., Stappen G.V. 2020. Potential Use of fatty acid profile for Artemia spp. discrimination //

Inland Water Biol. V. 13. № 3. P. 434. https://doi.org/10.1134/S199508292003013X

- Paland S., Colbourne J.K., Lynch M. 2005. Evolutionary history of contagious asexuality in Daphnia pulex // Evolution. V. 59. P. 800. https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2005.tb01754.x
- Penton E.H., Hebert P.D., Crease T.J. 2004. Mitochondrial DNA variation in North American populations of Daphnia obtusa: continentalism or cryptic endemism? // Mol. Ecol. V. 13. P. 97. https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.2003.02024.x
- Ronquist F., Teslenko M., Van Der Mark P. et al. 2012. Mr-Bayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space // Syst. Biol. V. 61. P. 539. https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029
- Rozas J. 2017. DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets // Mol. Biol. Evol. V. 34. P. 3299. https://doi.org/10.1093/molbev/msx248
- Sainz-Escudero L., López-Estrada E.K., Rodríguez-Flores P.C., García-París M. 2021. Settling taxonomic and nomenclatural problems in brine shrimps, Artemia (Crustacea: Branchiopoda: Anostraca), by integrating mitogenomics, marker discordances and nomenclature rules // Peer J. V. 9. P. 10865. https://doi.org/10.7717/peerj.10865
- Sainz-Escudero L., López-Estrada E.K., Rodríguez-Flores P.C.,
- García-París M. 2022. Brine shrimps adrift: Historical species turnover in Western Mediterranean Artemia (Anostraca) // Biol. Invasions. V. 24. P. 2477. https://doi.org/10.1007/s10530-022-02779-6
- Sanchez, M.I., Paredes I., Lebouvier M., Green A.J. 2016. Functional role of native and invasive filter-feeders, and the effect of parasites: learning from hypersaline ecosystems // PLoS One. V. 11(8). e0161478. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0161478
- Shadrin N., Stetsiuk A., Anufriieva E. 2022. Differences in mercury concentrations in water and hydrobionts of the crimean saline lakes: does only salinity matter? // Water. V. 14(17): e2613. https://doi.org/10.3390/w14172613
- Templeton A., Crandall K., Sing C. 1992. A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferredfrom restriction endonuclease mapping and DNA sequencedata. III. Cladogram estimation // Genetics. № 132. P. 619. https://doi.org/10.1093/genetics/132.2.619
- Van Stappen G., Sui L., Hoa V.N. et al. 2020. Review on integrated production of the brine shrimp Artemia in solar salt ponds // Rev. Aquac. V. 12. P. 1054. https://doi.org/10.1111/raq.12371
- Weider L.J., Hobaek A., Hebert P.D., Crease T.J. 1999. Holarctic phylogeography of an asexual species complex-II. Allozymic variation and clonal structure in Arctic Daphnia // Mol. Ecol. V. 8. P. 1. https://doi.org/10.1046/j.1365-294X.1999.00522.x
- Zierold T., Hanfling B., Gómez A. 2007. Recent evolution of alternative reproductive modes in the "living fossil" Triops cancriformis // BMC Evol. Biol. V. 7. P. 161. https://doi.org/10.1186/1471-2148-7-161

БИОЛОГИЯ ВНУТРЕННИХ ВОД 2023 Nº 5

Unique Haplotypes of *Artemia salina* (Crustacea, Branchiopoda, Anostraca) in Hypersaline Lake Sasyk-Sivash (Crimea)

A. O. Lantushenko¹, Ya. V. Meger^{1, *}, A. V. Gadzhi¹, E. V. Anufriieva^{1, 2}, and N. V. Shadrin^{1, 2}

¹Sevastopol State University, Sevastopol, Russia

²Federal Research Center A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the South Seas of the Russian Academy of Sciences, Sevastopol, Russia

*e-mail: meger_yakov@mail.ru

The genetic structure of the population of the *Artemia salina* (L., 1758) species from the hypersaline lake Sasyk-Sivash was studied on the basis of a fragment of the gene of the first subunit of cytochrome oxidase c (COI) of mitochondrial DNA. The phylogeny reconstruction was performed using all available nucleotide sequences of this gene for the *salina* species in the GenBank (NCBI) international database. Genealogical connections between COI haplotypes have been established and phylogeographic patterns have been revealed. Common haplotypes have been noted in Western Mediterranean populations, which may be a consequence of their location in a single migration corridor of birds, which, as is known, contribute to the passive spread of dormant stages of artemia. Geographically isolated groups of populations from Libya, Tunisia, Egypt, Cyprus and Crimea are characterized by unique haplotypes may be endemic to geographically remote regions.

Keywords: phylogenetic analysis, mitochondrial DNA, Artemia salina, haplotypes